

Efek Proteksi Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa Terhadap Kerusakan Jaringan Testis Tikus Yang Diinduksi Aluminium Klorida (AlCl₃)

The Protection Effect Of Methanol Extract From Asam Jawa Seed On Testicular Tissue Damage Induced By Aluminium Chloride (AlCl₃)

Rena Normasari¹, Muhammad Iqbal Fauzi², Ayu Munawaroh Aziz³

¹Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Alamat email korespondensi: rena_normasari@unej.ac.id

Abstrak

Aluminium dikenal memiliki sifat neurotoksin yang dapat menimbulkan penyakit alzheimer, demensia, dan parkinson. Ion metal seperti aluminium dapat mengganggu homeostasis yang berujung pada stres oksidatif, meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat merusak pertahanan antioksidan dan menimbulkan kerusakan DNA, peroksidase lipid, hingga berujung pada rusaknya sel testis. Biji *Tamarindus indica* merupakan salah satu tanaman tradisional yang berguna sebagai antioksidan. Biji *Tamarindus indica* mampu melindungi sel testis dari kerusakan akibat ROS. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui efek biji *Tamarindus indica* dalam mencegah kerusakan testis tikus yang diinduksi aluminium klorida diukur dari gambaran histopatologi. Jenis penelitian yang digunakan adalah *quasi experimental design* dengan rancangan *posttest only design with non-equivalent groups*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan sejumlah tiga puluh ekor terbagi dalam lima kelompok, yaitu satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Kelompok kontrol diberi larutan aquabides 1 mL per oral. Kelompok P1 diberi larutan aluminium dosis 300 mg/kgBB per oral. Kelompok P2, P3, dan P4 masing-masing diberi larutan aluminium dosis 300 mg/kgBB per oral dan larutan ekstrak dengan dosis 25, 50, 100 mg/kgBB per oral selama 10 minggu. Hasil pengamatan menunjukkan skor yang bervariasi antar kelompok. Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* mendapatkan nilai $p=0,006$ ($p<0,05$). Uji *Post Hoc* menggunakan *Mann Whitney* didapat nilai p bervariasi. Analisis *Post Hoc* antara kelompok K dengan P1, kelompok P1 dengan kelompok P3, kelompok P1 dengan kelompok P4 menunjukkan perbedaan bermakna dengan nilai $p<0,05$. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak metanol biji asam jawa (*Tamarindus indica*) mencegah kerusakan histopatologi testis tikus yang diinduksi aluminium klorida (AlCl₃).

Kata kunci: aluminium, sel testis, *Tamarindus indica*

Abstract

Aluminum is known has neurotoxin effect that can lead to alzheimer's disease, dementia, and parkinson's. Metal ions such as aluminum can distract homeostasis and increase oxidative stress level, formation of reactive oxygen species (ROS) that can overwhelm antioxidant defenses and cause DNA damage, lipid peroxidase, leading to the destruction of testicular cells. *Tamarindus indica*'s seeds are one of the traditional plant and useful as antioxidants. *Tamarindus indica*'s seeds are able to protect testicular cells from damage caused by ROS. The purpose of this study to determine the effect of methanol extract from *Tamarindus indica*'s seeds to prevent testicular damage. This study is a quasi experimental design with a posttest design only with non-equivalent groups using thirty male Wistar rats divided into five groups, one control group and four treatment groups. The control group was given 1 mL of aquabides solution orally. Group P1 was given a dose of aluminum solution 300 mg/kgBW orally. Groups P2, P3, and P4 were each given an aluminum solution at dose of 300 mg/kgBW orally and an extract solution at a dose of 25, 50, 100 mg/kgBW orally for 10 weeks. The results of the observations showed that the scores varied between groups. Data analysis using *Kruskal-Wallis* test obtained p value = 0.006 ($p < 0.05$). *Post Hoc* test using *Mann Whitney* obtained varied p values. *Post Hoc* analysis between K and P1 groups, P1 and P3 groups, P1 and P4 groups showed a significant difference with p value < 0.05 . Based on the results of this study, methanol extract from tamarind seeds (*Tamarindus indica*) that was given to male wistar rats had prevented histopathological damage to the testes of rats induced by aluminum chloride (AlCl₃).

Keywords: aluminium, testicular cell, *Tamarindus indica*

Pendahuluan

Aluminium dikenal sebagai salah satu logam yang memiliki peranan biologis pada tubuh, namun juga dapat diklasifikasikan sebagai logam yang bersifat toksik (Rajeswari dan Sailaja, 2014). Aluminium merupakan elemen ketiga paling banyak ditemukan di kerak bumi (Gupta *et al.*, 2013). Aluminium dapat masuk ke dalam tubuh secara oral melalui makanan yang diolah menggunakan alat berbahan dasar aluminium. Anak-anak umumnya memiliki rasio konsumsi yang lebih tinggi sehingga rentan terpapar aluminium secara berlebih (Crisponi *et al.*, 2013). Konsumsi Aluminium fosfida pada dosis 500 mg dapat berakibat fatal pada orang dewasa dan memiliki tingkat *lethal dose* hingga lima puluh persen dengan dosis 10 mg/kg. Angka kematian akibat konsumsi metal fosfida berada pada 31-77%. Kebanyakan kasus kematian disebabkan oleh gagal jantung, *refractory shock*, *severe acidemia*, kerusakan hepar fulminan, hingga *acute respiratory distress syndrome* (Hoffman *et al.*, 2015).

Produksi radikal bebas merupakan aktivitas katalis dari Aluminium, seperti pada kasus penyakit alzheimer (Yuan *et al.*, 2012). Aluminium meningkatkan jumlah sel apoptosis dibandingkan dengan objek coba yang tidak diberi aluminium (Akram *et al.*, 2010). Gangguan homeostasis ion oleh aluminium dapat menginisiasi stress oksidatif, saat terbentuk reaktif oksigen spesies (ROS) dapat merusak proteksi antioksidan organ (Ige dan Akhigbe, 2012). Penelitian sebelumnya menunjukkan aluminium berdampak pada peningkatan enzim SOD (*superoxide dismutase*). Konsentrasi enzim SOD akan meningkat pada lokasi yang lebih terdampak oleh ROS (*oxygen species*). Peningkatan SOD menunjukkan terjadinya stres oksidatif dan kerusakan jaringan (Dean *et al.*, 2011). Aluminium memberikan toksisitas pada sistem reproduksi pria dengan beberapa mekanisme seperti menginduksi stres oksidatif, mengganggu spermatogenesis dan steroidogenesis, merusak *cell junction*, mengganggu *blood-testis barrier*, serta mempengaruhi sistem endokrin (Pandey dan Jain, 2013).

Keterkaitan produk herbal dengan stres oksidatif terdapat pada sifat antioksidan sebagai zat pereduksi radikal bebas berlebih sehingga mencegah timbulnya stres oksidatif (Gupta *et al.*, 2012). Bahan alam yang dapat dimanfaatkan kandungan antioksidannya adalah biji asam jawa (*Tamarindus indica*). Asam jawa biasa digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional

(Soemardji, 2007). Ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* memiliki potensi sifat antioksidan yang lebih baik dibandingkan bagian lain dari tanaman *Tamarindus indica* (Razali *et al.*, 2015). Biji *Tamarindus indica* teruji memiliki kandungan senyawa polifenol lebih tinggi dari biji tanaman lainnya. Diketahui IC50 pada biji rambutan sebesar 305 µg/ml, pada biji leci 135 µg/ml, sedangkan pada biji *Tamarindus indica* sebesar 100 µg/ml. Semakin kecil nilai IC50, maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Chunglok *et al.*, 2014). Setiap bahan aktif dari senyawa polifenol biji tersebut memiliki peran anti inflamasi dan antioksidan, keduanya merupakan reduktor alami stres oksidatif dari efek patogen yang ditimbulkan zat aluminium (Spencer *et al.*, 2009).

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan ialah *quasi experimental design* secara *in vivo* dengan rancangan *posttest only design with nonequivalent group*. Populasi yang digunakan ialah tikus Wistar albino jantan. Sampel diambil tanpa randomisasi. Sampel penelitian berjumlah 25 ekor. Sampel yang diambil berdasarkan kriteria inklusi antara lain tikus Wistar albino jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram, dan tikus yang sehat dan bergerak aktif. Kriteria eksklusi yaitu tikus yang sakit (tidak aktif bergerak dan mengalami rambut rontok), tikus tidak ingin makan minum, dan tikus yang mati sebelum proses pengambilan sampel. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3), dan perlakuan 4 (P4). Kelompok K disonde aquabidest dan NaCl; P1 disonde larutan AlCl₃ 300 mg/kgBB; P2, P3, dan P4 disonde larutan AlCl₃ 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak *Tamarindus indica* 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Setelah dilakukan penelitian pendahuluan, perlakuan dilakukan selama 10 minggu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chiroma *et al.* (2018) dengan beberapa modifikasi.

Data diambil melalui pengamatan perubahan gambaran histopatologi testis tikus menggunakan mikroskop cahaya Leica DM500 dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Pengamatan perubahan gambaran histopatologi pada perbesaran 400x pada lima lapang pandang menggunakan acuan pada kriteria *scoring* Johnsen seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. *Scoring* Histopatologi Testis

Skor	Penilaian
10	Spermatogenesis lengkap dan tubulus tampak normal

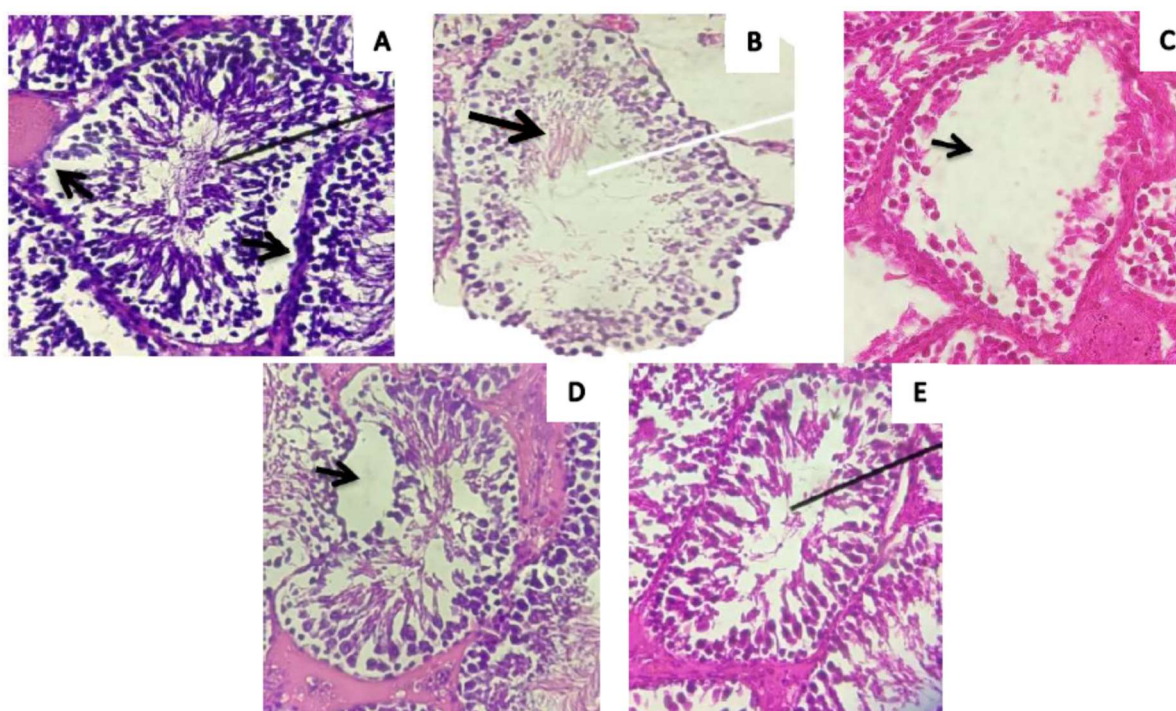
9	Tampak banyak spermatozoa namun spermatogenesis tidak teratur
8	Hanya sedikit spermatozoa yang tampak
7	Tidak tampak spermatozoa namun banyak spermatid yang tampak
6	Hanya sedikit spermatid yang tampak
5	Tidak tampak spermatozoa atau spermatid namun banyak spermatosit
4	Tampak sedikit spermatosit
3	Hanya spermatogonia yang tampak
2	Tidak ada sel germinal yang tampak
1	Tidak ada sel germinal atau sel Sertoli yang tampak

(Sumber: Johnsen, 1970)

Data yang diperoleh pada penelitian ini adalah perubahan gambar histopatologi testis yang merupakan data ordinal, oleh karena itu analisis data yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*. Jika analisis data dengan uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p < 0,05$, maka uji berlanjut dengan uji *Post Hoc Mann Whitney* dengan tujuan untuk menentukan kelompok yang berbeda. Nilai $p < 0,05$ berarti perbedaan antarkelompok dapat dinilai bermakna dan signifikan.

Hasil Penelitian

Perubahan gambaran histopatologi sel testis yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran sel testis tiap kelompok. (A) Kelompok kontrol: tampak epitel germinal yang terlepas (panah). (B) Kelompok P1: tampak jumlah spermatozoa yang kurang memadai (panah). (C) Kelompok P2: tampak kerusakan hingga hilangnya sel spermatozoa pada tubulus (panah). (D) Kelompok P3: tampak kurang terorganisirnya epitel germinal (panah). (E) Kelompok P4: tampak gambaran sel yang lengkap tanpa kerusakan.

Pengamatan hasil nilai modus skor perubahan gambaran histopatologi pada seluruh kelompok dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai modus skor perubahan gambaran histopatologi

Kelompok	Nilai Modus				
Kontrol	10	9	10	10	10
P1	7	9	7	9	7

P2	9	7	10	10	9
P3	10	10	10	10	9
P4	10	10	10	10	10

Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* memberikan nilai $p = 0,006$ ($p < 0,05$). Hasil uji tersebut mengindikasikan bila data skor yang diperoleh kelompok dalam penelitian ini memiliki perbedaan yang bermakna. Analisis data lalu

berlanjut dengan uji *post Hoc Mann Whitney* untuk dapat mencari perbedaan antara dua kelompok. Hasil uji *post Hoc Mann Whitney* menunjukkan data pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Signifikansi Uji *Post Hoc Mann Whitney*.

Kelompok	K	P1	P2	P3	P4
K		0,011*	0,189	1,000	0,317
P1	0,011*		0,118	0,011*	0,005*
P2	0,189	0,118		0,189	0,053
P3	1,000	0,011*	0,189		0,317
P4	0,317	0,005*	0,053	0,317	

Keterangan: (*) = terdapat perbedaan yang bermakna

Uji *Post Hoc Mann Whitney* menunjukkan hasil adanya perbedaan yang beragam. Data yang diperoleh melalui uji *Post Hoc Mann Whitney* menunjukkan bahwa pemberian aluminium 300 mg/kgBB (P1) menyebabkan kerusakan struktur histopatologi testis secara signifikan dibanding kelompok kontrol normal (K). Tingkat kerusakan histopatologi testis akibat aluminium menurun secara signifikan pada pemberian ekstrak *Tamarindus indica* dosis 50 mg/kgBB (P3) dan 100 mg/kgBB (P4).

Pembahasan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian aluminium dapat menyebabkan kerusakan struktur histopatologi testis secara signifikan dibanding kelompok kontrol normal (K). Testis merupakan organ reproduksi manusia yang memiliki fungsi dalam memproduksi sperma dan testosteron. Organ testis merupakan kesatuan dari sistem organ reproduksi yang berperan penting pada makhluk hidup (Adebayo *et al.*, 2012). Mekanisme aluminium terhadap penurunan produksi hormon testotestosterone pada testis yaitu dengan cara memblokir kanal kalsium dan menurunkan sekresi gonadotrophin pada hipofisis (Cheragi *et al.*, 2017). Aluminium dapat menimbulkan toksisitas pada organ reproduksi pria melalui radikal bebas yang ditimbulkan dan menyebabkan apoptosis. Berbagai mekanisme yang dapat menimbulkan apoptosis dari radikal bebas di antaranya produksi ROS, lipid peroksidase, kerusakan membran sel, dan menurunnya kadar *cyclic adenosine monophosphate* (CAMP) yang akan menurunkan proses steroidogenesis pada jaringan testis di tubulus seminiferus (Gupta *et al.*, 2012). Aluminium juga dapat mempengaruhi gonad pria sehingga berujung pada hipofertilitas, asthenospermia, hipospermia, teratospermia, dan

berkurangnya jumlah sperma (Olawuyi *et al.*, 2018).

Hasil pengamatan preparat histopatologi menunjukkan ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dapat mencegah kerusakan histopatologi testis ($p < 0,05$). Penelitian oleh Singh *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa ekstrak *Tamarindus indica* mampu memperbaiki aktivitas spermatozoa pada testis tikus wistar jantan yang diinduksi oleh sodium florida. Penelitian yang dilakukan oleh Maiti *et al.*, (2017) menggunakan ekstrak metanol *Tamarindus indica* memiliki peran proteksi terhadap dampak stres oksidatif yang ditimbulkan pada penyakit diabetes. Hipotesa peneliti semakin diperkuat melalui hasil penelitian oleh Luzia dan Jorge, (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak biji *Tamarindus indica* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Penelitian ini menghasilkan data yang menunjukkan bila larutan aluminium memberikan dampak kerusakan pada dosis (300 mg). Kerusakan tersebut dapat terlihat dari signifikannya perbedaan antara kelompok kontrol yang diberikan akuabides terhadap kelompok P1 yang hanya diberikan aluminium. Toksisitas aluminium terhadap testis juga telah dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan oleh Pandey dan Jain, (2017) yang menggunakan $AlCl_3$ dosis 90 mg/kgBB dan menunjukkan perubahan signifikan pada histopatologi testis tikus dibandingkan kontrol. Kelompok P2 diberikan larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB serta ekstrak dosis 25 mg/kgBB menghasilkan data skor kerusakan yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok P1 yang hanya mendapatkan larutan aluminium 300 mg/kgBB. Data tersebut mengindikasikan pemberian ekstrak biji *Tamarindus indica* pada dosis 25 mg/kgBB belum memberikan dampak pencegahan kerusakan oleh aluminium.

Dampak yang minimal oleh larutan ekstrak pada dosis tersebut dapat ditengarai karena kurangnya kadar senyawa polifenol yang cukup untuk memberikan dampak pencegahan kerusakan pada testis. Hal ini juga didukung oleh observasi peneliti terhadap penelitian sebelumnya yang menggunakan dosis 25 mg/kgBB ekstrak biji *Tamarindus indica* dan berdampak kurang maksimal dalam menurunkan kadar TNF- α (sitokin inisiator ROS) pada hewan coba yang diinduksi arthritis dibandingkan dosis 50 mg/kgBB (Sundaram *et al.*, 2015). Kelompok P3 dan P4 yang mendapat larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB bersamaan dengan larutan ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dosis 50 dan 100 mg/kgBB memperlihatkan adanya dampak pencegahan

terhadap kerusakan sel tubulus seminiferus testis dengan hasil skor yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok P1 yang hanya mendapatkan larutan aluminium dosis 300 mg/kgBB. Data tersebut didukung penelitian oleh Maiti *et al.*, (2017) dengan administrasi ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* pada dosis 80 mg/kgBB mampu memproteksi sel testis oleh kerusakan stres oksidatif dari keadaan diabetes maupun mempertahankan kadar serum normal testosteron hewan coba.

Mekanisme *Tamarindus indica* sebagai antioksidan dalam mencegah terjadinya ROS pada jaringan reproduksi mampu mencegah kerusakan yang ditimbulkan. Analisis data menggunakan uji *Post Hoc Mann-Whitney* antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB dengan kelompok kontrol menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara ketiganya, bahkan kelompok P3 dan P4 memiliki nilai skor modus yang lebih baik dibandingkan modus skor dari kelompok kontrol. Hal ini dapat disebabkan pengaruh sifat antioksidan ekstrak mampu mencegah secara maksimal dampak kerusakan yang ditimbulkan aluminium.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada dr. Rena Normasari, M. Biomed dan dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed atas bimbingan yang telah diberikan dalam penulisan artikel penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adebayo O.L., dan G.A. Adenuga. 2012. Oxidative damage on the testes of adult rats by sodium metabisulfite (MBS). *Int J Biol Chem. Sci*;6(2):738-44.
- Akram, D., E. Sharmin, dan S. Ahmad. 2010. Development and characterization of boron incorporated linseed oil polyurethanes. *J. Appl. Polym. Sci.* 116, 499–508.
- Cheraghi, E., A. Golkar, K. Roshanaei, dan B. Alani. 2017. Aluminium- induced oxidative stress, apoptosis and alterations in testicular tissue and sperm quality in Wistar rats: Ameliorative effects of curcumin. *International Journal of Fertility & Sterility*, 11(3), 166.
- Chiroma, S.M., Moklas, M.A.M., Taib, C.N.M., Baharuldin, M.T.H., Amon, Z., 2018. d-galactose and aluminium chloride induced rat model with cognitive impairments. *Biomed Pharmacother*, 103, 1602–1608.
- Chunglok, W., T. Utaipan, N. Somchit, M. Lertcanawanichakul, dan Y. Sudjaroen. 2014. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Non-Edible Parts of Selected Tropical Fruits. *Sains Malaysiana*, 43(5), 689-696.
- Crisponi, G., D. Fanni, C. Gerosa, S. Nemolato, V. M. Nurchi, M. C. Alonso, J. I. Lachowicz, dan G. Faa. 2013. The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. *Biomolecular Concepts*. 4(1): 77–87.
- Dean, O.M., B. M. van den, M. Berk, D.L Copolov, C. Mavros, dan A.L Bush. 2011. N-acetyl cysteine restores brain glutathione loss in combined 2-cyclohexene-1-one and d-amphetamine-treated rats: Relevance to schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Lett* 499:149-153.
- Gupta, N., S.S Gaurav, dan A. Kumar. 2013. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: A review. *Am J Plant Sci*;4: 21–37. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.412A3004>.
- Gupta, R., K., A.K Patel, R. Kumari, S. Chugh, C. Shrivastav, S. Mehra, dan A.N Sharma. 2012. Interactions between Oxidative Stress, Lipid Profile and Antioxidants in Breast Cancer: a Case Control Study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13(12), pp. 6295-6298.
- Hoffman, R.S., M.A Howland, N.A Lewin, L.S Nelson, dan L.R Goldfrank. 2015. Toxicologic Emergencies. 10th ed. *New York: McGraw-Hill Companies*; pp. 1381–2.
- Ige, S.F., dan R.E. Akhigbe. 2012. The role Allium cepa on aluminum-induced reproductive dysfunction in experimental male rat models. *Journal of Human Reproductive Sciences* 5: 200-5.
- Johnsen, S.G. 1970. Testicular biopsy score count-- a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1(1): 2-25.
- Luzia, D. M. M., dan N. Jorge. 2011. "Antioxidant Activity, Fatty Acid Profile and Tocopherols of *Tamarindus indica* L. Seeds." *Ciencia de Tecnologia de Alimentos* 31 (2): 497-501.

- Maiti, R., P. Karak, D.S. Misra, dan D. Ghosh. 2017. Diabetes-induced testicular dysfunction correction by hydromethanolic extract of *Tamarindus indica* Linn seed in male albino rats, *International Journal of Green Pharmacology* 11 (4).
- Olawuyi, T. S., G. S. Oladipo, A. S. Alabi, A. O. Oyewopo, dan G. O. Omotoso. 2018. *Lawsonia Inermis* Leaf Extract Mitigates Aluminium-Induced Testicular Toxicity in Wistar Rats: Immunohistochemical Study. *Journal of Malaria and Phytomedicine* 2 (02), 1-15.
- Pandey, G., dan G.C. Jain. 2013. A Review on Toxic Effects of Aluminium Exposure on Male Reproductive System and Probable Mechanisms of Toxicity. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 3(3): 48-57.
- Pandey, G., dan G.C. Jain. 2017. Aluminium Chloride-Induced Testicular Effects in Rats: A Histomorphometrical Study. *Asian J. Appl. Sci. Technol. (AJAST)*. 1(9):46-52.
- Rajeswari, T.R., dan N. Sailaja. 2014. Impact of heavy metals on the environment pollution. *J Chem Pharm Sci* 3:175-181.
- Razali, N., A.A. Aziz, C.Y. Lim, dan S.M. Junit. 2015. Investigation into the effects of antioxidant-rich extract of *Tamarindus indica* leaf on antioxidant enzyme activities, oxidative stress and gene expression profiles in HepG2 cells. *PeerJ*;3, e1292.
- Singh, P.K., A.D. Feroz, H. Sheeba, A. Khalil, dan A.M. Samir. 2012. Beneficial effect of *Tamarindus indica* on the testes of albino rat after fluoride intoxication. *Int J Pharm Bio Sci* 3:487-493.
- Soemardji, A.A. 2007. *Tamarindus indica* L. or "Asam Jawa": The Sour but Sweet and Useful. Available from www.inm.utoyama.ac.jp/jp/nennpo/07nennpo/07review_article.pdf.
- Spencer, J. P. 2009. Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes & nutrition*, 4(4), 243-250.
- Sundaram, S.M., M. Hemshekhar, S.M. Santhosh, M. Paul, K. Sunitha, dan M.R. Thushara. 2015. Tamarind seed (*Tamarindus indica*) extract ameliorates adjuvant-induced arthritis via regulating the mediators of cartilage/bone degeneration. *Inflamm Oxid Stress Sci Rep*;5
- Yuan, C.Y., Y.J. Lee, dan G.S. Hsu. 2012. Aluminum overload increases oxidative stress in four functional brain areas of neonatal rats. *J. Biomed. Sci.* 19: 1.